

## Tingkat Kerusakan Hepatosit Mencit yang Diinduksi Alkohol 40%

Hendri<sup>1</sup>, Ari Hepi Yanti<sup>1</sup>, Tri Rima Setyawati<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura,  
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak,  
email: hendrisofyan93@gmail.com

### Abstract

Consumption of alcoholic drink in large quantity can cause alcoholic liver disorder, such as liver weakening, fibrosis and cirrhosis. This research aims to determine the effects of alcohol 40% orally for 20 days and 27 days on the liver of mice. The design of the study is the randomized block design, which consists of three groups: normal control group, exposure to alcohol for 20 days and exposure to alcohol for 27 days. The results showed that adding 40% alcohol for 27 days in mice caused liver damage most severe than alcohol exposure for 20 days. The damage that occurred in the liver of mice included narrowing of the sinusoid and changes in normal hepatocyte that became swollen degeneration.

**Keywords :** alcohol 40%, alcoholic liver disorder, hepatocyte

### PENDAHULUAN

Hati merupakan organ utama yang menjadi target dari senyawa toksik. Sekitar 75% darah hati berasal dari visera gastrointestinal dan limpa. Darah tersebut mengandung senyawa obat-obatan, xenobiotik dan makanan maupun minuman yang bersifat hepatotoksik. Senyawa-senyawa tersebut diserap oleh sistem pencernaan dan langsung dibawa ke hati melalui vena untuk didetoksifikasi. Namun, beberapa senyawa yang didetoksifikasi justru menjadi kofaktor bagi senyawa toksik lainnya (Jaeschke *et al.*, 2002). Masuknya senyawa hepatotoksik secara terus-menerus dengan jumlah yang besar dapat mengakibatkan kerusakan hati dan menurunkan fungsi dari organ tersebut (Mescher, 2013).

Alkohol merupakan salah satu senyawa hepatotoksik bagi hati (Lindgren *et al.*, 1997; Day *et al.*, 2004). Konsumsi alkohol secara berlebihan dan dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan 60 jenis penyakit. Salah satu penyakit akibat konsumsi alkohol adalah gangguan hati alkoholik. Menurut WHO (2014), gangguan hati alkoholik merupakan penyebab kematian terbesar ketiga di dunia. Gangguan hati alkoholik meliputi perlemakan hati, hepatitis, fibrosis dan sirosis (Sorensen *et al.*, 1984; Teli *et al.*, 1995; Bellentani *et al.*, 1997; Corrao *et al.*, 1997). Persentase perlemakan hati mencapai 90% pada individu yang mengkonsumsi alkohol lebih dari 60 g/hari (Crabb, 1999). Menurut Becker *et al.*

(2002), konsumsi alkohol sebanyak 5 kali per hari meningkatkan persentase terjadinya sirosis hati sebesar 14–20%. Dari sebagian peminum alkohol berat tersebut, 10–30% diantaranya mengalami hepatitis alkoholik (Longo *et al.*, 2011).

Minuman beralkohol dikonsumsi setiap hari oleh dua miliar orang di dunia dan lebih dari 76 juta orang diantaranya mengkonsumsi alkohol secara berlebihan. Setiap tahun korban meninggal akibat konsumsi alkohol mencapai 2.500.000 orang di dunia. Sebanyak 9% korban meninggal akibat konsumsi minuman beralkohol berumur 15–29 tahun dan kematian paling banyak dialami oleh pria dengan umur 35 – 64 tahun (Bosetti *et al.*, 2007; WHO, 2014). Kematian akibat sirosis hati terbesar terdapat di negara Perancis dan Spanyol (30 kematian per 100.000 orang/tahun) dan paling rendah pada negara benua Eropa bagian utara (5 kematian per 100.000 orang/tahun). Angka kematian akibat konsumsi alkohol di Indonesia mencapai 50 orang per hari atau 18.000 orang per tahun (Bosetti *et al.*, 2007). Tingginya angka kematian akibat konsumsi minuman beralkohol menjadi topik permasalahan bagi penulis untuk melakukan penelitian mengenai pengaruh alkohol 40% terhadap hati mencit.

### BAHAN DAN METODE

#### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Mei hingga November 2015 di Laboratorium Biologi, Laboratorium Zoologi dan Ekologi Fakultas

Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Tanjungpura Pontianak.

### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah akuabides, alkohol 30%, alkohol 40%, alkohol 50%, alkohol 60%, alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 90%, alkohol 96%, dan alkohol absolut, *aluminium foil*, *canada balsam*, kertas label, larutan Bouin, larutan NaCl 0,9%, mencit (*Mus musculus*) galur Swiss kelamin jantan berusia 3 bulan dengan berat 20-25 g, metanol absolut, pakan pelet mencit, parafin, toluol, xylol dan zat warna Hematoksilin-Eosin.

### Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK). Perlakuan yang diujikan adalah variasi lama waktu pemberian alkohol 40%, yaitu selama 20 hari dan 27 hari serta akuabides selama 20 hari pada mencit. Perlakuan yang diberikan diulang sebanyak tiga kali ulangan.

### Cara Kerja

#### Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel minuman beralkohol dengan konsentrasi 40% didapatkan dari pedagang kaki lima setempat di sekitar Kota Pontianak.

#### Penelitian

Mencit dipelihara dalam kandang yang berisi tiga ekor per kandang. Sebelum diberi perlakuan, mencit diaklimasi terlebih dahulu selama 7 hari di laboratorium pada suhu  $27 \pm 2^\circ\text{C}$  di bawah siklus pencahayaan 12 jam terang/gelap. Mencit diberi pakan pelet dan akuabides setiap hari (*ad libitum*). Pada kelompok kontrol normal, mencit diberi akuabides selama 20 hari, sedangkan pada kelompok perlakuan, mencit diberi alkohol 40% selama 20 hari dan 27 hari. Pemberian volume oral larutan dihitung berdasarkan aturan *The Institutional Animal Care and Use Committee* (IACUC) (2008) dengan maksimal volume per oral adalah 10 mL/KgBB mencit.

#### Preparasi Organ Hati

Preparat sayatan organ hati mencit dibuat menggunakan metode parafin. Mencit dimatikan dengan cara dislokasi servikalis kemudian dibedah. Organ hati diambil lalu dicuci dalam larutan garam fisiologis. Selanjutnya organ hati difiksasi dalam larutan Bouin selama 3 jam. Organ hati kemudian didehidrasi bertingkat menggunakan alkohol dan diinfiltrasi dalam parafin bertingkat. Organ hati dipotong dengan ukuran 6 – 8  $\mu\text{m}$  yang diwarnai menggunakan pewarnaan hematoksilin-eosin

### Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan dan mendeskripsikan struktur mikroanatomi hati mencit dari masing-masing perlakuan.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Hasil

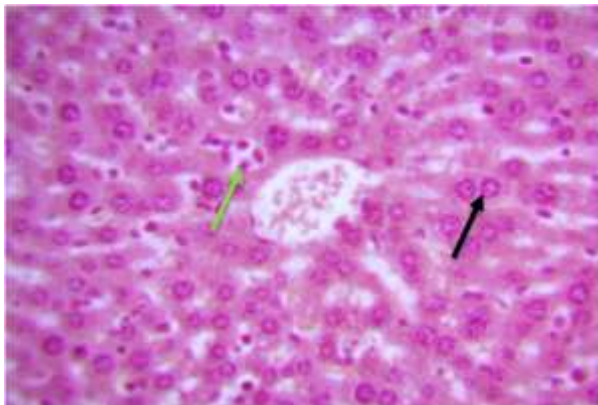
Pada penelitian ini, mencit diberi akuabides dan alkohol 40% secara oral dengan maksimal volume sebanyak 10 mL/Kg BB mencit. Pemberian alkohol 40% dilakukan selama 20 hari dan 27 hari, sedangkan pemberian akuabides dilakukan selama 20 hari. Pemberian alkohol selama 20 hari dan 27 hari pada mencit menyebabkan toksisitas hati yang menimbulkan kerusakan pada hepatosit.

Pada kelompok kontrol normal (akuabides) (Gambar 1.), hepatosit normal dapat ditemukan diseluruh bidang pandang, tidak ditemukan hepatosit yang mengalami degenerasi bengkak keruh. Hepatosit pada kelompok ini tersusun radier yang memusat ke arah vena sentral dan sinusoid terlihat jelas.

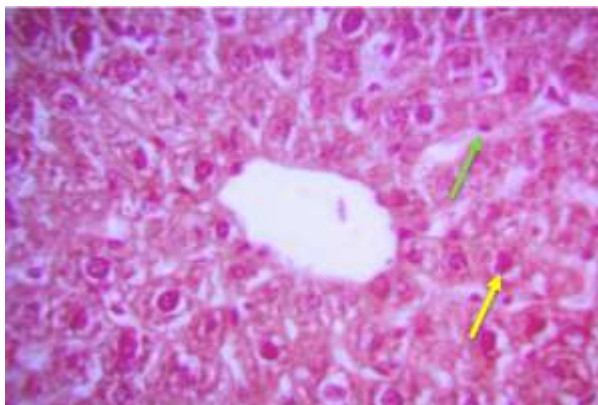
Pada pengamatan struktur mikroanatomi hati mencit, kerusakan hati terlihat pada kelompok mencit yang diberi alkohol 40% selama 20 hari dan 27 hari (Gambar 2. dan Gambar 3.). Kerusakan hati ditandai dengan perubahan sitoplasma pada hepatosit menjadi keruh, sinusoid mengecil atau tidak ada sama sekali dan bertambahnya ukuran hepatosit. Hepatosit yang mengalami degenerasi bengkak keruh terdapat diseluruh bidang pandang, tersusun tidak teratur dan hepatosit normal sangat jarang ditemukan pada kedua kelompok tersebut.

#### Pembahasan

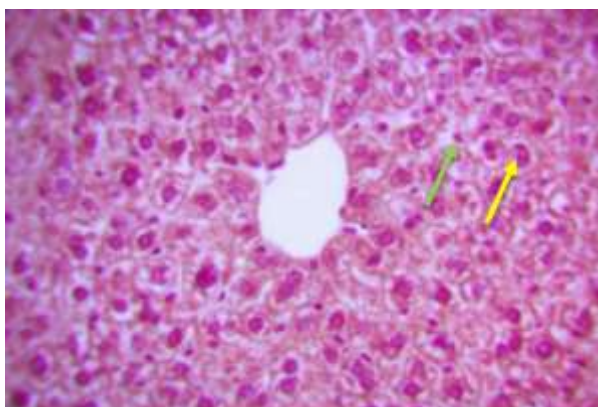
Hati mencit pada kelompok normal tidak mengalami kerusakan setelah diberi akuabides selama 20 hari secara oral (Gambar 1.). Struktur mikroanatomi hati mencit pada kelompok ini tersusun teratur. Sinusoid pada kelompok ini terlihat jelas, menandakan bahwa hepatosit tidak mengalami pembengkakan. Hal ini karena akuabides tidak bersifat toksik bagi hati. Akuabides merupakan air jernih, tidak berasa dan tidak berbau yang disuling sebanyak dua kali, sehingga persentase kemungkinan terkontaminasi oleh senyawa toksik dan mikroorganisme sangat kecil. Air yang masuk ke dalam tubuh akan langsung diserap oleh sistem pencernaan dan didistribusikan ke seluruh tubuh oleh pembuluh darah. Air tersebut berfungsi membantu proses metabolisme berbagai reaksi senyawa dalam sel dan sebagai pelarut senyawa lainnya (Wiggins, 1990).



Gambar 1. Struktur Mikroanatomi Hati Mencit Kelompok Perlakuan Akuabides selama 20 hari (Panah Hitam: Hepatosit Normal; Panah Hijau: Sel Kupffer) (Perbesaran 400X)



Gambar 2. Struktur Mikroanatomi Hati Mencit Kelompok Perlakuan Alkohol 40% selama 20 hari (Panah kuning: Hepatosit Degenerasi Bengkak Keruh; Panah Hijau: Sel Kupffer) (Perbesaran 400X)



Gambar 3. Struktur Mikroanatomi Hati Mencit Kelompok Perlakuan Alkohol 40% selama 27 hari (Panah kuning: Hepatosit Degenerasi Bengkak Keruh; Panah Hijau: Sel Kupffer) (Perbesaran 400X)

Kerusakan hati mencit pada penelitian ini terlihat pada kelompok yang dipaparkan alkohol 40% selama 20 hari dan 27 hari. Kerusakan hati dapat terlihat dari perubahan struktur mikroanatomi hati. Beberapa tanda-tanda terjadinya kerusakan hati adalah terjadinya perubahan ukuran hepatosit dan ukuran sinusoid. Menurut Lieber (1997), alkohol merupakan salah satu senyawa yang menyebabkan abnormalitas metabolisme. Hal ini dikarenakan oleh jumlah nikotinamida adenin dinukleotida hidrogen (NADH) yang berlebihan hasil dari oksidasi alkohol oleh enzim alkohol dehidrogenase (ADH). Akibatnya, reaksi reduksi-oksidasi menjadi tidak seimbang, mengubah proses metabolisme lipid dan merusak membran hepatosit (Donohue, 2007).

Pada penelitian ini kerusakan hati mencit pada kelompok yang diberi alkohol 40% selama 27 hari (Gambar 3.) lebih besar dibandingkan kelompok yang diberi alkohol 40% selama 20 hari (Gambar 2.). Hal ini dikarenakan perbedaan jangka waktu pemberian alkohol 40%. Pemberian alkohol yang berlebihan dalam jangka waktu yang lama akan menurunkan jumlah enzim aldehida dehidrogenase (ALDH) dan alkohol dehidrogenase (ADH), sehingga menghambat proses metabolisme asetaldehida.

Senyawa asetaldehida merusak mikrotubula sitoskeleton dan menyebabkan hepatosit mengalami degenerasi bengkak keruh (Smith *et al.*, 1989; Chen *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2013). Proses sekresi protein pada hepatosit tersebut menjadi terganggu yang berdampak pada perubahan sifat permeabilitas membran hepatosit (Dancygier dan Schirmacher, 2010b). Proses pemompaan ion  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  menjadi terganggu sebagai akibat dari perubahan permeabilitas membran yang memicu masuknya air ke dalam hepatosit, sehingga hepatosit membengkak (Liang *et al.*, 2009). Hepatosit yang membengkak diduga menjadi penyebab utama penyempitan sinusoid pada kelompok alkohol 40% selama 20 hari dan 27 hari. Pada penelitian ini tidak ditemukan hepatosit yang mengalami degenerasi perlemakan dan nekrosis. Hal ini dikarenakan kerusakan hepatosit degenerasi bengkak keruh akibat induksi alkohol 40% selama 20 hari dan 27 hari merupakan gejala awal terjadinya kerusakan hati alkoholik. Perlemakan hepatosit akan terlihat pada hati yang mengalami steatosis dan steatohepatitis, sedangkan hepatosit yang mengalami nekrosis akan terlihat jelas pada tingkat fibrosis dan sirosis. Menurut Bruha *et al.* (2012), kerusakan hati alkoholik terjadi pada peminum yang mengkonsumsi alkohol murni lebih

dari 80 g per hari selama 10 tahun dengan rata-rata persentase mencapai 100%. Berdasarkan survei terhadap 256 peminum alkohol berat selama 10 tahun, 45% diantaranya mengalami steatosis, 34% mengalami steatohepatitis, 10% berada pada tingkat steatohepatitis-sirosis dan 10% mengalami sirosis (Barrio *et al.*, 2004).

## DAFTAR PUSTAKA

- Barrio, E, Tomé, S, Rodríguez, I, Gude, F, Sánchez-Leira, J, Pérez-Becerra, E, González-Quintela, A, 2004, 'Liver Disease in Heavy Drinkers with and without Alcohol Withdrawal Syndrome', *Alcohol Clin Exp Res*, vol. 28, hal. 131-136
- Becker, U, Gronbaek, M, Johansen, D & Sorensen, TI, 2002, 'Lower Risk for Alcohol-Induced Cirrhosis in Wine Drinkers', *Hepatology*, vol. 35, hal. 808–875
- Bellentani, S, Saccoccio, G, Costa, G, Tiribelli, C, Manenti, F, Sodde, M, Croce, LS, Sasso, F, Pozzato, G, Cristianini, G, Brandi, G & The Dionysos Study Group, 1997, 'Drinking Habits as Cofactors of Risk for Alcohol Induced Liver Damage', *Gut*, vol. 41, hal. 845–850
- Bosetti, C, Levi, F, Lucchini, F, Zatonski, WA, Negri, E & La Vecchia C, 2007, 'Worldwide Mortality from Cirrhosis: An Ppdate to 2002', *J Hepatol*, vol. 46, hal. 827-839
- Bruha, R, Dvorak, K & Petrtyl, J, 2012, 'Alcoholic Liver Disease', *World J Hepatol*, vol. 4, no. 3, hal. 81-90
- Chen, X, Li, R, Liang, T, Zhang, K, Gao, Y & Xu, L, 2013, 'Puerarin Improves Metabolic Function Leading to Hepatoprotective Effects in Chronic Alcohol-Induced Liver Injury in Rats', *Phytomedicine*, diakses pada tanggal 12 Juni 2016, <<http://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2013.04.001>>
- Corrao, G, Arico, S, Zambon, A, Torchio, P, Lepore, AR, Busellu, G, Orio, Fd & Collaborative Groups for The Study of Liver Diseases in Italy, 1997, 'Is Alcohol a Risk Factor for Liver Cirrhosis in HBsAg and Anti-HCV Negative Subjects? Collaborative Groups for The Study of Liver Diseases in Italy', *Journal of Hepatology*, vol. 27, hal. 470–476
- Crabb, DW, 1999, 'Pathogenesis of Alcoholic Liver Disease: Newer Mechanisms of Injury', *Keio J Med*, vol. 48, hal 184-188
- Dancygier, H & Schirmacher, P, 2010b, 'Liver Cell Degeneration and Cell Death', *Springer*, vol. 1, hal. 207-218
- Day, L, Shikuma, C & Gerschenson, M, 2004, 'Mithochondrial Injury in The Pathogenesis of Antiretroviral-Induced Hepatic Steatosis and Lactic Acidemia', *Mithochondrion*, vol. 4, hal. 95-109
- Donohue, TM, 2007, 'Alcohol-Induced Steatosis in Liver Cells', *World J Gastroenterol*, vol. 13, hal. 4974-4978
- Jaeschke, H, Gores, GJ, Cederbaum, AI, Hinson, JA, Pessayre, D & Lemasters, JJ, 2002, 'Mechanisms of Hepatotoxicity', *Toxicological Sciences*, vol. 65, hal. 166-176
- Li, R, Liang, T, He, Q, Guo, C, Xu, L, Zhang, K & Duan, X, 2013, 'Puerarin, Ssolated from *Kudzu* root (Willd.), Attenuates Hepatocellular Cytotoxicity and Regulates the GSK-3 $\beta$ /NF- $\kappa$ B Pathway for Exerting The Hepatoprotection Against Chronic Alcohol-Induced Liver Injury in Rats', *International Immunopharmacology*, vol. 17, hal. 71–78
- Liang, D, Bhatta, S, Gerzanich, V & Simard, JM, 2009, 'Cytotoxic Edema: Mechanisms of Pathological Cell Swelling', *Neurosurg Focus*, vol. 22, no. 5, hal. 1-17
- Lieber, CS, 1997, 'Ethanol Metabolism, Cirrhosis and Alcoholism', *Clinica Chimica Acta*, vol. 257, no.1, hal. 59-84
- Lindgren, A, Aldenborg, F, Norkrans, G, Olaison, L & Olsson, R, 1997, 'Paracetamol-Induced Cholestatic and Granulomatous Liver Injuries', *Journal of Internal Medicine*, vol. 241, hal. 435-439
- Longo, DL, Kasper, DL, Jameson, JL, Faucy, AS, Hauser, SL & Loscalzo, J, 2011, *Harrison's Principle of Internal Medicine*, edisi ke-18, New York, McGraw-Hill
- Mescher, AL, 2013, *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas*, edisi ke-13, McGraw-Hill Education, hal. 329-337, ISBN: 978-0-07-178033-9
- Smith, SL, Jennett, RB, Sorrell, MF & Tuma, DJ, 1989, 'Acetaldehyde Substoichiometrically Inhibits Bovine Neurotubulin Polymerization', *Journal of Clinical Investigation*, vol. 84, no. 1, hal. 337–341
- Sorensen, TI, Orholm, M, Bentsen, KD, Hoybye, G, Eghoje, K & Christoffersen, P, 1984, 'Prospective Evaluation of Alcohol Abuse and Alcoholic Liver Injury in Men as Predictors of Development of Cirrhosis', *The Lancet*, vol. 324, no. 8397, hal. 241–244
- Teli, MR, Day, CP, Burt, AD, Bennett, MK & James OFW, 1995, 'Determinants of Progression to Cirrhosis or Fibrosis in Pure Alcoholic Fatty Liver', *The Lancet*, vol. 346, hal. 987-990

The Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC), 2008, *Oral Gavage in Mice*, diakses pada 3 Maret 2015, <[www.iacuc.ucsf.edu/policies/awsporalgavagemice.asp](http://www.iacuc.ucsf.edu/policies/awsporalgavagemice.asp)>

Wiggins, PM, 1990, 'Role of Water in Some Biological Processes', *Microbiological Reviews*, vol. 54, hal. 432-449

World Health Organization (WHO), 2014, *Global Status Report on Alcohol and Health*